

# **Trabalho de Conclusão de Curso**

## **AVALIAÇÃO DO METABOLISMO EPITELIAL EM CISTOS RADICULARES PELA TÉCNICA DE AgNOR**

**Daiana Cavalli**



**Universidade Federal de Santa Catarina**  
**Curso de Graduação em Odontologia**



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CURSO DE GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA**

**Daiana Cavalli**

**AVALIAÇÃO DO METABOLISMO EPITELIAL EM CISTOS  
RADICULARES PELA TÉCNICA DE AgNOR**

Trabalho apresentado à Universidade  
Federal de Santa Catarina, como  
requisito para a conclusão do Curso de  
Graduação em Odontologia  
Orientador: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Elena Riet  
Correa Rivero  
Co-orientador: Prof. Dr. Filipe Modolo  
Siqueira

**Florianópolis  
2013**



Daiana Cavalli

## **AVALIAÇÃO DO METABOLISMO EPITELIAL EM CISTOS RADICULARES PELA TÉCNICA DE AgNOR**

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado, adequado para obtenção do título de cirurgião-dentista e aprovado em sua forma final pelo Departamento de Odontologia da Universidade Federal de Santa Catarina.

Florianópolis, 16 de maio de 2013.

### **Banca Examinadora:**

---

Prof., Dr. Filipe Modolo Siqueira  
Orientador  
Universidade Federal de Santa Catarina

---

Prof.<sup>a</sup>, Dr.<sup>a</sup>. Ana Maria Heck Alves  
Universidade Federal de Santa Catarina

---

Prof.<sup>a</sup>, Dr.<sup>a</sup>. Michelle Tilmann Biz  
Universidade Federal de Santa Catarina



Dedico esse trabalho:

A minha família, Tereza, Sergio e Juliana.

Ao meu amor, Israel.





## AGRADECIMENTOS

A minha orientadora Prof<sup>a</sup>, Dr<sup>a</sup>. Elena Riet Correa Rivero, por todos os ensinamentos passados, pela presença mesmo quando longe, pela paciência e sabedoria que sempre estiveram presentes, e pela confiança em mim depositada. Foi muito bom construir esse trabalho contigo. Muito obrigada.

Ao co-orientador Prof. Dr. Filipe Modolo Siqueira, pela ajuda quando solicitada, por estar sempre com um sorriso no rosto disposto a ajudar.

A equipe da Patologia Bucal da UFSC, professores e técnicos, que sempre se mostraram dispostos em colaborar com esse trabalho, e ao Laboratório de Patologia Bucal, em especial a Dani e Fabinho, que tornavam as tardes passadas lá mais alegres.

A mestrandia Kamille, que tirou seu tempo para me ajudar em várias pendências desse trabalho, obrigada pela dedicação e amizade.

Aos meus pais, Tereza Cavalli e Sergio Cavalli, por toda paciência e incentivo durante a construção desse trabalho e durante toda a minha vida, vocês são minha maior inspiração, maior exemplo de amor. Eu amo vocês.

A minha irmã, Juliana Cavalli, pelos inúmeros conselhos dados, pela disponibilidade em me ajudar a construir esse trabalho, por compartilhar seu conhecimento científico comigo, pela força e incentivo que a convivência nos trouxe. Eu amo você também.

Ao meu namorado, Israel Pereira, pelo incentivo sempre, por levantar meu astral e ser tão presente na minha vida. Por ser tão perfeito pra mim. Amo você.

Aos meus colegas de curso, em especial as odontogirls, por sempre animarem meu dia, sempre serem a terapia diária, vou sentir muita falta de todos nós juntos.

Aos meus amigos e familiares de todos os lugares, que souberam entender a minha ausência, e a todos que contribuíram para a realização desse trabalho. Vocês são fundamentais, sempre.

E principalmente a Deus, por permitir a realização de um sonho.



## RESUMO

Os Cistos Radiculares (CR) são os mais comuns dos cistos maxilares. A sua formação está associada à ativação e proliferação dos restos epiteliais de Malassez por estímulos inflamatórios, devido à proliferação bacteriana no interior do canal radicular de um dente com necrose pulpar. Quando o dente junto ao qual o cisto se desenvolveu é removido sem remoção da lesão, esse cisto passa a ser denominado de Cisto Residual (CRe). Devido à etiologia inflamatória a primeira linha de tratamento para o CR é o tratamento endodôntico. No entanto, nem sempre esse tratamento é suficiente e o cisto pode continuar a crescer necessitando de tratamento cirúrgico, o que ocorre na maioria dos casos de CRe. Uma das formas de se avaliar o metabolismo celular é por meio da identificação das AgNORs, que são proteínas não-histônicas associadas a segmentos de DNA que transcrevem o RNA ribossômico. O objetivo deste trabalho foi avaliar o metabolismo do epitélio de revestimento de cistos radiculares e residuais, utilizando-se a técnica de quantificação das AgNORs, e verificar a influência da presença de inflamação sob o crescimento desses cistos. Para o estudo foram utilizadas 20 amostras de CR e 10 de CRe, provenientes dos arquivos do Laboratório de Patologia Bucal da UFSC. A análise quantitativa dos AgNORs foi feita através de imagens microscópicas digitalizadas em aumento de 1000x, utilizando o software “Contando células”. Não foi observada diferença estatística entre o número médio de AgNORs entre CR e CRe. No entanto, foi observado maior número médio de AgNORs nas áreas inflamadas em relação as não inflamadas, considerando ambas as lesões, com diferença estatisticamente significativa ( $p \leq 0,05$ ). Concluímos que a inflamação interfere no metabolismo epitelial de CR e CRe, o que reflete uma interferência das citocinas inflamatórias na proliferação do epitélio, contribuindo para o crescimento do cisto, independentemente da presença do fator etiológico associado com a origem da lesão.

Palavras-chave: Proliferação, epitélio, cisto radicular, cisto residual, inflamação.



## ABSTRACT

Radicular cysts (RC) are the most common cysts of the jaws. Their formation is associated with the activation and proliferation of epithelial rests of Malassez by inflammatory stimuli, due to the proliferation of bacteria in the root canal of a tooth with necrotic pulp. When the tooth next to the cyst which has developed is removed, the cyst becomes known as Residual Cyst (ReC). Due to inflammatory etiology the first line of treatment for RC is endodontic treatment. However, this treatment is not always sufficient and the cyst can continue to grow requiring surgical treatment, which occurs in most cases ReC. One way of evaluating the cell's metabolism by identifying the AgNOR, which are non-histone proteins associated with DNA segments that transcribe ribosomal RNA. The aim of this study was to evaluate the metabolism of the epithelial lining of radicular cysts and residual, using the technique of quantification of AgNORs, and the influence of the presence of inflammation in the growth of these cysts. For the study 20 samples of RC and 10 ReC were using, from the archives of the Oral Pathology Laboratory of UFSC. The quantitative analysis of AgNORs was performed by microscopic images scanned in 1000x magnification, using "Counting cells." There was no statistical difference between the mean number of AgNORs between RC and ReC. However, there was a higher average number of AgNORs in inflamed areas compared to non-inflamed, considering both lesions, with statistically significant difference ( $p \leq 0.05$ ). We conclude that inflammation interferes with the metabolism of RC an ReC epithelium, which reflects an interference of inflammatory cytokines in the epithelium proliferation, contributing to the growth of the cyst, regardless of the presence of the etiologic factor associated with the origin of the injury.

**Keywords:** Proliferation, epithelium, radicular cyst, residual cyst, inflammation.



## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Cisto Radicular: A, cápsula de tecido conjuntivo sem presença de infiltrado inflamatório (H&E, 400×); B, Maior aumento de A, mostrando o epitélio pavimentoso estratificado (H&E 1000×); C, AgNORs evidenciadas no núcleo das células epiteliais (AgNOR, 1000×); D, cápsula de tecido conjuntivo intensamente inflamada (H&E, 400×); E, Maior aumento de D, mostrando o epitélio pavimentoso estratificado com áreas de acantose (H&E 1000×); F, AgNORs evidenciadas no núcleo das células epiteliais (AgNOR, 1000×).....21

Figura 2 - Cisto Residual: A, cápsula de tecido conjuntivo sem presença de infiltrado inflamatório (H&E, 400×); B, Maior aumento de A, mostrando o epitélio pavimentoso estratificado (H&E 1000×); C, AgNORs evidenciadas no núcleo das células epiteliais (AgNOR, 1000×); D, cápsula de tecido conjuntivo com presença de infiltrado inflamatório (H&E, 400×); E, Maior aumento de D, mostrando o epitélio pavimentoso estratificado com acantose (H&E 1000×); F, AgNORs evidenciadas no núcleo das células epiteliais (AgNOR, 1000×).....23





## **LISTA DE TABELAS**

Tabela 1 - Valores referentes à quantidade de NORs/núcleo em CR e CRe.....12

Tabela 2 - Valores referentes à quantidade de NORs/núcleo em áreas inflamadas e não inflamadas de ambas lesões.....13



## **LISTA DE GRÁFICOS**

Gráfico 1 - Número de NORs/núcleo em áreas que apresentavam regiões inflamadas e não inflamadas de CR e CRe.....14

Gráfico 2 - Número de NORs/núcleo por lesão, sendo elas o CR e o CRe.....15



## **LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

AgNOR - Proteínas Argirofílicas Nucleolares  
CR- Cistos radiculares  
CRe - Cistos residuais  
DNA - Ácido desoxiribonucleico  
H&E - Hematoxilina e eosina  
IL-1 $\alpha$  - interleucina 1- $\alpha$   
IL-6 - interleucina 6  
LPB-UFSC - Laboratório de Patologia Bucal da Universidade Federal de Santa Catarina  
MCP-1 - Proteína quimiotática de monócitos-1  
NOR - Regiões Organizadoras Nucleolares  
RANTES – Célula T normal expressa e secretada regulada na ação  
RNA - Ácido ribonucleico  
ssDNA- Single-stranded DNA  
TNF $\alpha$  - fator de necrose tumoral- $\alpha$   
UFSC - Universidade Federal de Santa Catarina  
VEGF - Fator de crescimento vascular endotelial



## SUMÁRIO

1. CONTEXTUALIZAÇÃO DO PROBLEMA.....	1
1.1 OBJETIVOS.....	4
1.1.1 Objetivos Gerais .....	4
1.1.2 Objetivos Específicos .....	4
2. ARTIGO.....	5
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	19
REFERÊNCIAS .....	25
ANEXO A .....	28





## 1. CONTEXTUALIZAÇÃO DO PROBLEMA

Considerações sobre cistos:

Os cistos são definidos como uma cavidade patológica constituídos externamente por uma cápsula de tecido conjuntivo, e revestidos internamente por epitélio, contendo material líquido ou semi-sólido no seu interior (Shafer *et al.*, 1987).

Nos ossos maxilares os cistos mais comuns são os de origem odontogênica, que de acordo com a etiologia, são classificados em cistos de desenvolvimento e cistos inflamatórios (Shafer *et al.*, 1987; Neville, 2009; Domingues *et al.*, 2007). Os cistos odontogênicos correspondem a 78,7% dos cistos maxilares, sendo os cistos inflamatórios os mais comuns, dentre estes, o cisto radicular (CR) (59,6%) e o cisto residual (CRe) (28,4%) os mais frequentes (Santos *et al.*, 2007). O CRe é o mesmo CR que permaneceu no tecido ósseo após a extração do dente que deu origem à lesão. (Neville *et al.*, 2009; Domingues *et al.*, 2007). Histologicamente, o CR é constituído por uma cápsula de tecido conjuntivo fibroso denso, revestida por epitélio pavimentoso estratificado. Na cápsula observa-se variável infiltrado inflamatório, principalmente de leucócitos mononucleados. No lúmen e cápsula cística geralmente estão presentes fendas de cristais de colesterol (Shafer *et al.*, 1987; Neville *et al.*, 2009).

O CR tem origem dos restos epiteliais de Malasses, que proliferam devido à inflamação periapical causada pela colonização bacteriana no interior do canal radicular de um dente com necrose pulpar. Essa necrose na maioria das vezes é decorrente de cárie dental, com consequente inflamação pulpar. A partir da mortificação do tecido pulpar, o canal radicular se torna um nicho para proliferação bacteriana, e quando as toxinas bacterianas ultrapassam o forame apical estimulam um processo inflamatório nos tecidos periapicais. Os exsudatos inflamatórios provenientes dessa inflamação fazem com que haja reabsorção óssea e quimiotaxia, e, dependendo da virulência dos micro-organismos que infectaram o ápice dental e do sistema imune do indivíduo, essa inflamação pode ter uma cura espontânea, pode se intensificar, propagando-se para o osso com a formação de abscesso periapical, ou cronificar formando um processo inflamatório crônico inespecífico, também conhecido como granuloma periapical (Nair, 2004).

A teoria mais aceita para o crescimento dos cistos é que ocorra pela diferença de pressão osmótica no seu interior, a qual aumenta à medida que as células epiteliais descamam no lúmen do cisto, aumentando o conteúdo proteico, fazendo com que líquido tissular seja atraído para o interior da cavidade, aumentando dessa forma a pressão hidrostática no lúmen da lesão. Logo, o crescimento dos cistos ocorre de forma lenta, dificilmente atingindo grandes tamanhos (Neville *et al.*, 2009).

Os CRs geralmente provem de um granuloma periapical. Fatores bioquímicos e celulares da inflamação, bem como fatores da defesa humoral e celular, parecem estar envolvidos na formação e desenvolvimento dos CR. Dentre estes fatores podemos citar citocinas inflamatórias como as interleucinas 1 e 6 (IL-1a, IL-1b, IL-6), que estão relacionadas com o crescimento epitelial cístico, e o Fator de Necrose Tumoral (TNF), que parece agir potencializando a ação citotóxica dos neutrófilos (Shafer *et al.*, 1987).

Há duas classes de CRs: os cistos verdadeiros, que tem uma cavidade completamente fechada por epitélio, e o cisto em baía, que tem uma comunicação com o canal radicular. A formação do cisto verdadeiro se dá por três estágios: a primeira é a proliferação dos restos epiteliais de Malasses pelos fatores de crescimento liberados pelas células da inflamação no local; a segunda é a formação da cavidade cística, que pode ser formada de duas maneiras: pela deficiência nutricional que as células centrais sofrem por estarem distantes da fonte nutricional, ocorrendo assim necrose e degeneração dessas células no centro da cavidade, e a outra maneira é a teoria que o epitélio circunda um abscesso periapical, formando a cavidade. O terceiro estágio é o crescimento do cisto, que ocorre, principalmente por diferença de osmolaridade (Neville *et al.*, 2009; Nair, 2004; Regezi, 1999). O cisto em baía provavelmente é formado por um revestimento epitelial do abscesso que se forma no ápice radicular, deixando um cordão epitelial que liga a cavidade revestida ao forame apical (Santos *et al.*, 2009).

O principal tratamento para o CR é o tratamento endodôntico, porém vários fatores podem fazer com que haja insucesso no tratamento, e o CR não repare. Foram listados 6 principais motivos para tal: infecção radicular persistente; infecção extrarradicular; extravazamento de material além do forame apical, que provoca uma reação do organismo; acúmulo de cristais de colesterol endógeno que irrita o tecido periapical; uma lesão de cisto verdadeiro, pois não se consegue chegar até a lesão para tratá-la; e cicatrização dos tecidos periapicais (Nair, 2006; Martins, 2009). Para o CRe, já que não há mais a presença do elemento dentário, o tratamento, na maioria das vezes é cirúrgico, e

tem um prognóstico bom, já que não tende a recidivar. Se for um cisto pequeno a médio porte, a enucleação é a primeira opção, e em casos de cistos muito grandes é aconselhável a marsupialização da lesão (Neville *et al.*, 2009; Domingues *et al.*, 2007).

#### Considerações sobre AgNORs:

Há várias formas de marcação histológica para indicar o nível de proliferação celular, relacionado ao desenvolvimento das doenças. Uma delas é a técnica de AgNORs, que consiste em corar as NORs (Regiões Organizadoras Nucleolares) com nitrato de prata. As NORs são fragmentos de DNA localizados sobre a constrição secundária dos cromossomos acrocêntricos 13, 14, 15, 21 e 22 no nucléolo da célula que sintetizam RNA ribossômico, importante para a síntese proteica. O nitrato de prata marca proteínas específicas ligadas à transcrição das NORs, denominadas então de proteínas argirofílicas nucleolares (AgNORs), podendo assim serem vistas como pontos escurecidos no núcleo celular. Logo, quanto mais AgNORs são corados, maior é a atividade proliferativa daquele tipo celular (Rivero *et al.*, 2004; Trére, 2000; Pich *et al.*, 2000; Freitas *et al.*, 1998; Coleman *et al.*, 1996; Ploton *et al.*, 1986).

Relacionando a quantidade de AgNORs com as fases celulares, Sirri *et al.* concluiu que essa técnica é um bom marcador da proliferação celular pois o aumento das AgNORs aconteceu primeiramente na fase S, constante na fase G2 e com um menor aumento na fase G1. Logo, o aumento na síntese de RNAr não teve efeito significativo na quantidade de AgNORs (Siri *et al.*, 2000).

Muitos estudos são realizados usando a técnica de AgNORs para comparação de lesões bucais, comprovando que lesões com apresentação clínica mais agressiva e portanto, mais ativas em sua proliferação, apresentam um número estatisticamente maior de AgNORs quando comparados com lesões menos agressivas da cavidade oral. (Santos *et al.*, 2009; Eslami *et al.*, 2003).

Embora a quantificação de AgNORs seja indicativo de metabolismo celular aumentado, elas não são específicas para avaliação de proliferação celular (Ploton, 1986; Freitas *et al.*, 1998). No entanto, quando as mesmas são avaliadas em células sem função secretória, como no caso do epitélio de cistos odontogênicos, o aumento do número médias de AgNORs, indica aumento do metabolismo celular associado a proliferação.

No referido trabalho avaliamos o metabolismo celular, relacionado com atividade proliferativa, no epitélio de revestimento de cistos odontogênicos radiculares e residuais, assim como a influencia processo inflamatório presente na cápsula, na indução de proliferação desse epitélio.

## **1.1 OBJETIVOS**

### **1.1.1 Objetivos Gerais**

Avaliar o metabolismo epitelial, relacionado com atividade proliferativa, no epitélio de revestimento de CR e CRe.

### **1.1.2 Objetivos Específicos**

- Fazer avaliação quantitativa das proteínas AgNORs no epitélio de CR e CRe.
- Verificar se existe diferença entre a quantificação das AgNORs em CR e CRe.
- Comparar o número médio de AgNORs nas áreas inflamadas e não inflamadas dos CR e CRe.

## 2. ARTIGO

*Artigo formatado conforme normas do Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial (acessadas em: abril de 2013).*

### **Avaliação do metabolismo epitelial em cistos radiculares pela técnica de AgNORs**

#### **RESUMO**

**Introdução:** Os Cistos Radiculares (CR) são os mais comuns dos cistos maxilares. A sua formação está associada à ativação e proliferação dos restos epiteliais de Malassez por estímulos inflamatórios, devido à proliferação bacteriana no interior do canal radicular de um dente com necrose pulpar. Quando o dente junto ao qual o cisto se desenvolveu é removido, esse cisto passa a ser denominado de Cisto Residual (CRe). Sabe-se que a presença de fatores de crescimento junto à cápsula conjuntiva de um cisto inflamado influencia na proliferação do epitélio de revestimento do mesmo, contribuindo para o crescimento deste. Devido a isso a primeira linha de tratamento para os CR é o tratamento endodôntico, para eliminar a inflamação presente e permitir a involução da lesão. No entanto, nem sempre esse tratamento é suficiente e o cisto pode continuar a crescer necessitando de tratamento cirúrgico, o que ocorre na maioria dos casos de CRe que continuam a crescer mesmo na ausência do fator etiológico (canal radicular infectado).

**Objetivo:** Avaliar o metabolismo do epitélio de revestimento de cistos radiculares e residuais, utilizando-se a técnica de quantificação das AgNORs, e verificar a influência da presença de inflamação sob o crescimento desses cistos.

**Materiais e Métodos:** Foram utilizadas 20 amostras de CR e 10 de CRe, provenientes dos arquivos do Laboratório de Patologia Bucal da UFSC. A análise quantitativa dos AgNORs foi feita através de imagens microscópicas digitalizadas em aumento de 1000x, utilizando o software “Contando células”, e a análise estatística feita pelo teste pós-hoc de Newman-keuls para a comparação de AgNORs entre áreas inflamadas e não inflamadas, e entre CR e CRe.

**Resultados:** Não foi observada diferença estatística entre o número médio de AgNORs entre CR e CRe. No entanto, foi observado maior número médio de AgNORs nas áreas inflamadas em relação as não inflamadas, considerando ambas as lesões, com diferença estatisticamente significativa ( $p \leq 0,05$ ).

**Conclusão:** A inflamação interfere no metabolismo epitelial de CR e CRe, o que reflete a ação de fatores de crescimento na proliferação do epitélio, contribuindo para o crescimento do cisto, independentemente da presença do fator etiológico associado com a origem da lesão.

Palavras-chave: Cisto radicular, cisto residual, inflamação, epitélio, proliferação.

## ABSTRACT

**Introduction:** The Radicular Cysts (RC) are the most common cysts of the jaws. Their formation is associated with the activation and proliferation of epithelial rests of Malassez by inflammatory stimuli, due to the proliferation of bacteria in the root canal of a tooth with necrotic pulp. When the tooth next to the cyst which has developed is removed, the cyst becomes known as Residual Cyst (ReC). It is known that the presence of growth factors in the connective capsule of an inflamed cyst influences the proliferation of the epithelial lining, contributing to the cystic growth. Because of this, the first line treatment for the RC is endodontic, to eliminate inflammation present and allow involution of the lesion. However, this treatment is not always sufficient and the cyst can continue to grow requiring surgical treatment, which occurs in most cases of ReC that continue to grow even in the absence of etiological factor (infected root canals).

**Objective:** To evaluate the metabolism of the epithelial lining of radicular cysts and residual, using the technique of quantification of AgNORs, and the influence of the presence of inflammation in the growth of these cysts.

**Materials and Methods:** We analyzed 20 samples of RC and 10 of ReC, from the archives of the Oral Pathology Laboratory of UFSC. The quantitative analysis of AgNORs was performed by microscopic images scanned 1000x magnification, using "Counting cells," and the statistical analysis done by post-hoc test of Newman-Keuls test for comparison of AgNORs between inflamed and non-inflamed areas, and between RC and ReC.

**Results:** There was no statistical difference between the mean number of AgNORs between RC and ReC. However, there was a higher average number of AgNORs in inflamed areas compared to non-inflamed, considering both lesions, which was statistically significant ( $p \leq 0.05$ ).

**Conclusion:** Inflammation interferes with the metabolism of RC and ReC epithelium, which reflects an interference of inflammatory cytokines in the epithelium proliferation, contributing to the growth of the cyst, regardless of the presence of the etiologic factor associated with the origin of the injury.

**Keywords:** radicular cyst, residual cyst, inflammation, epithelium, proliferation.





## INTRODUÇÃO

Considerando que a necrose pulpar, em decorrência de cárie dental, com consequente pulpíte, é um evento frequente na clínica odontológica, o cisto radicular (CR) é o cisto mais frequente nos ossos maxilares (1, 2, 3).

A formação do CR está associada à ativação e proliferação dos restos epiteliais de Malassez por estímulos inflamatórios, devido à proliferação bacteriana no interior do canal radicular de um dente com necrose pulpar (4). Quando o dente junto ao qual o cisto se desenvolveu é removido sem remoção da lesão, esse cisto passa a ser denominado de Cisto Residual (CRe).

Sabe-se que a presença de fatores de crescimento junto à cápsula conjuntiva de um cisto inflamado influencia na proliferação do epitélio de revestimento do mesmo, contribuindo para o crescimento deste. Dentre estes fatores podemos citar citocinas inflamatórias como as interleucinas 1 e 6 (IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6), e o Fator de Necrose Tumoral (TNF) (1). Devido a isso, a primeira linha de tratamento para os CR é o tratamento endodôntico, para eliminar a inflamação presente e permitir a involução da lesão (4, 14, 22, 25). No entanto, nem sempre esse tratamento é suficiente e o cisto pode continuar a crescer necessitando de tratamento cirúrgico, o que ocorre na maioria dos casos de CRe que continuam a crescer mesmo na ausência do fator etiológico (canal radicular infectado) (21, 22, 25).

Uma das formas de se avaliar o metabolismo celular é por meio da técnica de AgNOR. Essa técnica se baseia na ligação da prata coloidal às proteínas acídicas, não-histônicas, associadas às Regiões Organizadoras Nucleolares (NORs). As NORs são fragmentos de DNA localizados sobre a constrição secundária dos cromossomos acrocêntricos 13, 14, 15, 21 e 22 no nucléolo da célula, que transcrevem o RNA ribossômico. Uma vez que as NORs estão diretamente relacionadas com síntese proteica, elas se encontram aumentadas em número de acordo com o aumento do metabolismo celular, o que ocorre quando a célula entra no ciclo celular. O nitrato de prata marca proteínas específicas ligadas à transcrição das NORs, denominadas então de proteínas argirofílicas nucleolares (AgNORs), podendo assim serem vistas como pontos escurecidos no núcleo celular. Logo, quanto mais AgNORs são coradas, maior é a atividade proliferativa daquele tipo celular (5, 6, 7, 8, 9). Porém, em células com função secretória, o AgNOR não pode ser considerado específico para avaliação de

proliferação celular. (10, 8), que não é o caso quando avaliamos o epitélio de revestimento dos CR e CRe.

Baseado no exposto acima, o objetivo deste trabalho foi avaliar o metabolismo do epitélio de revestimento de cistos radiculares e residuais, utilizando-se a técnica de quantificação das AgNORs, e verificar a influência da presença de inflamação sob a patogênese desses cistos.

## MATERIAIS E MÉTODOS

Este trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de Santa Catarina sob o número 131.490 (Anexo A).

### Seleção dos casos

Por meio de um levantamento retrospectivo dos casos de CR e CRe diagnosticados pelo Laboratório de Patologia Bucal (LPB) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), do período de 2007 a 2012, foram selecionadas lâminas histopatológicas coradas com hematoxilina e eosina (H&E) para avaliação em microscopia **de luz**. Como critérios de inclusão consideraram-se o bom estado de conservação dos blocos e a presença de epitélio de revestimento na análise microscópica das lâminas coradas em H&E, em pelo menos 3/4 da lesão. Ao final, obteve-se uma amostra de 20 casos de CR e 10 casos de CRe. Os casos selecionados foram classificados quanto à presença ou não de inflamação na cápsula cística (próximo ao epitélio). A presença de inflamação foi considerada sempre que houvessem mais de 20 leucócitos mono ou polimorfonucleados, em um campo de 40x, característicos do infiltrado inflamatório.

### Técnica Histoquímica das AgNORs

As amostras fixadas em formol a 10% e emblocadas em parafina foram submetidas a cortes de 3µm e estendidas em lâminas de vidro previamente limpas e desengorduradas, preparadas com adesivo à base de 3-aminopropiltietoxi-silano (Sigma Chemical CO, St Louis, MO USA). Primeiramente os cortes histológicos foram desparafinados em banhos de xilol e reidratados, em cadeia descendente de etanol. A seguir os cortes foram abundantemente lavados em água deionizada e submetidos à técnica do AgNOR, de acordo com Ploton *et al.* (10)

modificada por Rivero e Aguiar (11).

Após a lavagem dos cortes por 5 minutos em água deionizada corrente estes foram submetidos a tratamento prévio com ácido cítrico 10mM pH 6.0, por 20 minutos em micro-ondas com potência de 700W, com a intenção de melhorar a marcação pela prata. Após resfriamento, os cortes foram lavados abundantemente em água deionizada e incubadas em solução aquosa de nitrato de prata por 40 minutos em temperatura ambiente. Após a incubação, os cortes foram lavados com água deionizada aquecida a 45°C, deixados em água deionizada corrente em temperatura ambiente por 15 minutos, e então desidratados em concentrações crescentes de etanol, clareados com xilol e montados com Entellan® (Merck, Darmstadt, Alemanha).

### **Análise quantitativa das AgNORs**

A seleção das áreas analisadas foi feita previamente em cortes sequenciais corados em hematoxilina e eosina (H&E), selecionando áreas com presença ou não de células inflamatórias. A análise quantitativa das AgNORs foi realizada em imagens microscópicas captadas por microcâmera e digitalizadas no aumento de 1000X, por um método semi-automático. Cabe salientar que alguns casos, especialmente as lesões mais extensas, apresentavam áreas inflamadas e não inflamadas, e nesses foram consideradas ambas as áreas para quantificação. Outros casos apresentavam somente áreas inflamadas e outros não apresentavam inflamação. Para cada área representativa (com e sem inflamação), foram usados de 3 a 8 imagens, para totalizar ao menos cem núcleos por área (com e sem inflamação). Para a quantificação do número médio de AgNORs por caso/área, foi usado o software desenvolvido por Ferreira *et al.* (12) – “Contando Células”.

### **Análise estatística das AgNORs**

Foram realizadas duas comparações, uma entre os CR e CRe, sem considerar a presença de infiltrado inflamatório ou não; e outra comparando as áreas inflamadas com as áreas não inflamadas sem distinção do tipo de lesão (CR e CRe).

Para comparação estatística foi realizado o teste *pos hoc* de Newman-Keuls entre os CR e CRe, e entre as regiões inflamadas e não inflamadas, verificando a média NORs/núcleo de cada grupo, sendo considerado o valor de  $p \leq 0,05$  para os dados com significância estatística.

## RESULTADOS

As AgNORs foram visualizadas ao microscópio de luz como pontos pretos ou acastanhados, de tamanhos distintos, arredondados, com limites regulares, distribuídos pelos núcleos das células epiteliais.

Os valores referentes à quantidade de NORs/núcleo em CR e CRe estão demonstrados na tabela 1. Os valores referentes à quantidade de NORs/núcleo em áreas inflamadas e não inflamadas de ambas as lesões estão demonstrados na tabela 2.

**Tabela 1: Valores referentes à quantidade de AgNORs/núcleo em CR e CRe.**

<b>CISTOS RADICULARES</b>	<b>AgNORs/ NÚCLEO (n=20)</b>	<b>CISTOS RESIDUAIS</b>	<b>AgNORs/ NÚCLEO (n=11)</b>
01 (PB 001/2)	1,78	21 (PB 002/1)	1,78
02 (PB 003)	1,51	22 (PB 061/1)	1,88
03 (PB 004/2)	1,73	23 (PB 070/1)	1,60
04 (PB 007/2)	1,62	24 (PB 452)	1,70
05 (PB 145/1)	1,61	25 (PB 744)	1,52
06 (PB 378)	1,31	26 (PB 872)	1,83
07 (PB 468)	2,56	27 (PB 906)	1,78
08 (PB 568)	1,88	28 (PB 1091)	1,81
09 (PB 654)	1,98	29 (PB 1204)	1,48
10 (PB 681)	1,81	30 (23234)	2,02
11 (PB 893)	1,74	31 (32598)	1,60
12 (PB 970)	1,68	-	-
13 (PB 1092)	1,66	-	-
14 (PB 1125)	1,84	-	-
15 (PB 1173)	1,98	-	-
16 (PB 1177)	1,89	-	-
17 (PB 1231)	2,14	-	-
18 (24036)	1,09	-	-
19 (24713)	1,42	-	-
20 (22971)	2,00	-	-
Média ± DV	1,81±0,28	Média ± DV	1,73±0,16

Teste *pos hoc* de Newman-Keuls com  $p=0,37314$ .

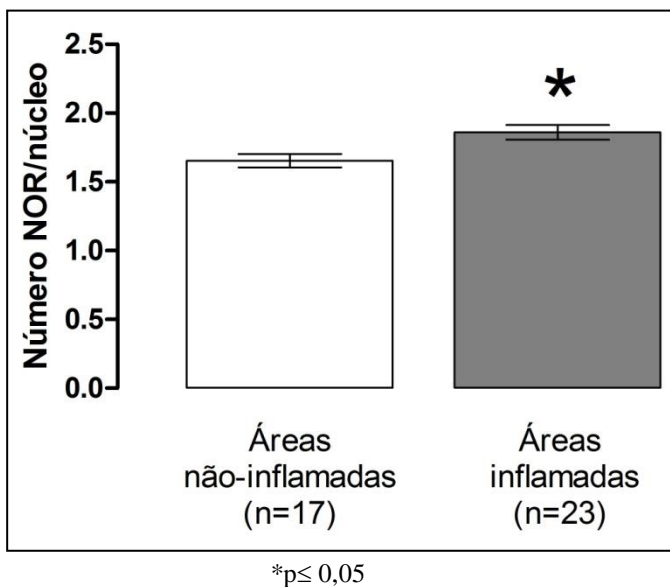
**Tabela 2: Valores referentes à quantidade de AgNORs/núcleo em áreas inflamadas e não inflamadas de ambas as lesões.**

ÁREAS INFLAMADAS	AgNORs/ NÚCLEO (n=23)	ÁREAS NÃO INFLAMADAS	NORs/ NÚCLEO (n=17)
01 (PB 001/2)	1,78	02 (PB 003)	1,51
04 (PB 007/2)	1,62	03 (PB 004/2)	1,73
05 (PB 145/1)	1,61	10 (PB 681)	1,91
06 (PB 378)	1,31	11 (PB 893)	1,63
07 (PB 468)	2,56	12 (PB 970)	1,43
08 (PB 568)	1,88	13 (PB 1092)	1,70
09 (PB 654)	1,98	14 (PB 1125)	2,01
10 (PB 681)	1,71	19 (24713)	1,42
11 (PB 893)	1,86	21 (PB 002/1)	1,79
12 (PB 970)	1,93	22 (PB 061/1)	1,88
13 (PB 1092)	1,62	23 (PB 070/1)	1,47
14 (PB 1125)	1,67	24 (PB 452)	1,47
15 (PB 1173)	1,98	25 (PB 744)	1,52
16 (PB 1177)	1,89	26 (PB 872)	1,83
17 (PB 1231)	2,14	27 (PB 906)	1,88
18 (24036)	2,09	28 (PB 1091)	1,44
20 (22971)	2,00	29 (PB 1204)	1,48
23 (PB 070/1)	1,73	-	-
24 (PB 452)	1,92	-	-
27 (PB 906)	1,69	-	-
28 (PB 1091)	2,19	-	-
30 (23234)	2,02	-	-
31 (32598)	1,60	-	-
Média±DV	1,86±0,26	Média±DV	1,65±0,20

Teste *pos hoc* de Newman-Keuls com  $p=0,00943$ .

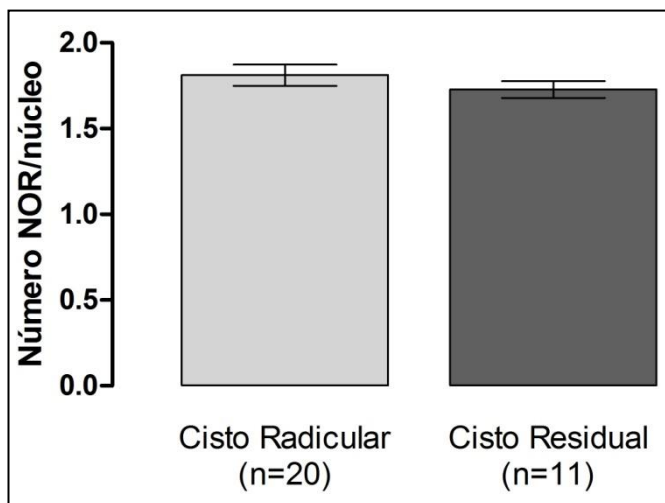
Foi observada diferença estatística ( $p<0,05$ ) para a média NORs/núcleo entre área inflamada e área não inflamada, representados no gráfico 1.

**Gráfico 1: Número de NORs/núcleo em áreas que apresentavam regiões inflamadas e não inflamadas de CR e CRe.**



Já na comparação entre cistos residuais e cistos radiculares, embora a média de NORs/núcleo tenha sido maior nos casos de CR (gráfico 2), não houve diferença estatisticamente significativa.

**Gráfico 2: Número de NORs/núcleo por lesão, sendo elas o CR e o CRe.**



Nas figuras 1 e 2 é possível visualizar a histologia do cisto radicular e residual, inflamados e não inflamados, assim como as AgNORs no núcleo das células epiteliais.

## DISCUSSÃO

As periodontites apicais se originam pela colonização progressiva de microorganismos e seus produtos nos tecidos periapicais, provenientes da infecção e necrose pulpar em decorrência da cárie dentária (22, 25). Os CRs são os mais comuns dos cistos maxilares e representam de 6% a 55% das periodontites apicais (25). A sua formação é associada à ativação e proliferação dos restos epiteliais de Malassez por estímulos inflamatórios (22).

Uma vez que o cisto radicular é um cisto de origem inflamatória é esperado que removido o agente etiológico por meio de tratamento endodôntico ou exodontia, a lesão regrida. Alguns estudos têm apresentado índices de sucesso entre 85%-95% de lesões radiograficamente compatíveis com CR que repararam após o tratamento endodôntico do dente envolvido (25, 26, 28). Biologicamente há muitas hipóteses para explicar os mecanismos de reparo após a terapia endodôntica. As células epiteliais do revestimento dos cistos podem parar de proliferar, devido à redução de mediadores inflamatórios, fatores de crescimento e citocinas inflamatórias, e os mecanismos de apoptose são ativados, inibindo dessa forma o crescimento da lesão (23, 29, 30).

A relação entre a proliferação epitelial e a presença de inflamação nos CR é bem estabelecida (22, 23, 30). Considerando que a privação de fatores de crescimento, como as citocinas dos processos inflamatórios, estimula as células a entrar em apoptose, é esperado a remoção do fator etiológico, como no caso do CRe, implique no desequilíbrio entre a proliferação e a morte celular do revestimento epitelial dos cistos odontogênicos inflamatórios, resultando no reparo dos tecidos periapicais.

Neste trabalho avaliamos o metabolismo celular no revestimento epitelial CRs e CRes, utilizando a técnica de AgNOR, afim de relacionar com a proliferação celular relacionado com o crescimento dessas lesões. Na comparação entre CR e CRes, não foi observada diferença estatisticamente significativa, entre o número médio de AgNORs entre as lesões. Esse resultado sugere uma atividade proliferativa semelhante no revestimento epitelial de CRs e CRes, o que nos leva a pensar que o CRe continua a crescer mesmo sem o agente contaminante, uma vez que a infecção que gerou o cisto não está mais presente em contato com a lesão. De acordo com Walton, uma vez cessado o estímulo inflamatório, o CRe tende a diminuir de tamanho até total reparação do tecido ósseo, chegando até mesmo a questionar a real



existência do CRe. (13). No entanto, mesmo sem a presença do fator etiológico, outros irritantes como cristais de colesterol e antígenos desconhecidos fazem a inflamação persistir, estimulando o cisto a crescer, e não regredir (22).

Por outro lado, de acordo com Nair (14) a presença ou não de agente infeccioso na lesão inflamatória não é decisiva para determinar a cura ou progressão da doença, uma vez que as células de defesa do organismo se acumulam nos locais de reação do corpo, produzindo citocinas inflamatórias que reabsorvem osso e dão espaço para que a lesão continue a crescer, pela presença do infiltrado inflamatório. Em um estudo de Muglali *et al* (15) no qual se comparou a intensidade de citocinas inflamatórias presentes em CR e CRe, observou-se um número estatisticamente menor Interleucina-1- $\alpha$  (IL-1 $\alpha$ ), tumor de necrose tumoral- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), proteína quimiotática de monócitos-1 (MCP-1) e célula T normal expressa e secretada regulada na ação (RANTES) em CRe, concluindo que o crescimento desse cisto é mais lento do que em CR, mesmo já tendo sido reportados casos de CRe que atingiram um grande volume (16).

De acordo com a teoria de crescimento dos cistos pela diferença de pressão osmótica, com o crescimento do cisto as células do revestimento epitelial descamam para o lúmen, fazendo com que o conteúdo proteico aumente, promovendo a entrada de líquido tissular para a cavidade cística, aumentando a pressão hidrostática, que por sua vez, estimula na proliferação epitelial, contribuindo para a expansão lenta porém contínua do cisto, mesmo na ausência da inflamação (2,16).

No presente trabalho o número médio de AgNORs foi estatisticamente maior nas regiões inflamadas, quando comparadas com áreas não inflamadas. Regiões inflamadas possuem um maior grau de proliferação celular devido a citocinas secretadas por leucócitos, que estimulam a reabsorção óssea, sendo as mais importantes para o crescimento do cisto a IL-1 $\alpha$  e o TNF- $\alpha$  (15,17,18), ambas encontradas em CR e CRe (15, 22).

Em um estudo sobre imunexpressão do fator de crescimento vascular endotelial (VEGF), que é uma citocina ligada à angiogênese, indução de proliferação, diferenciação e migração celular, comparando sua quantidade entre granulomas periapicais, CR e CRe, foi visto que o VEGF está presente nessas lesões inflamatórias, porém em um nível inferior no CRe, que pode ser interpretado como tendo um crescimento mais lento do que de outras lesões (19).

## CONCLUSÃO

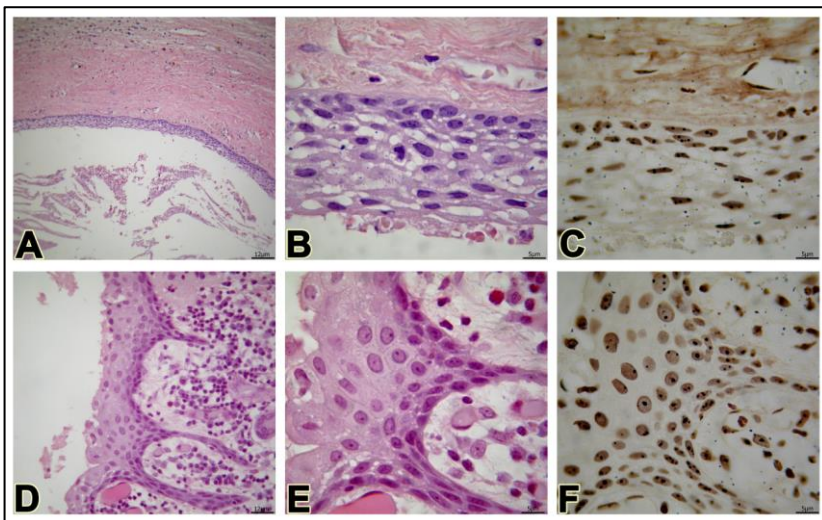
A presença de inflamação na cápsula conjuntiva de CRs e CRes aumenta o metabolismo celular podendo estimular a proliferação do epitélio com consequente influência no crescimento do cisto. Embora no CRe não haja mais o fator etiológico presente (canal radicular infectado), a manutenção da inflamação na cápsula, por outros motivos, pode explicar a não regressão de algumas lesões.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

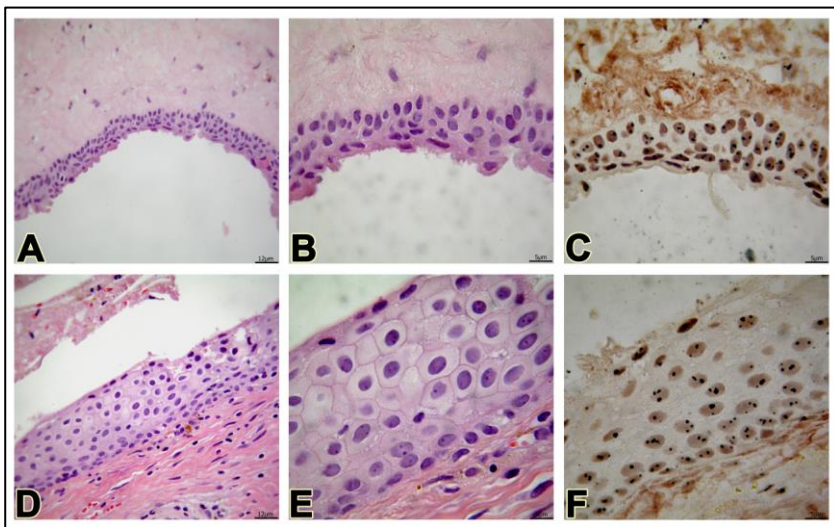
1. SHAFER, W.; HINE, M.; LEVY, B. Tratado de patologia bucal. 4ª edição, Rio de Janeiro. Editora Guanabara Koogan, 1987
2. NEVILLE, B. W.; DAMM, D. D.; ALLEN, C. M.; BOUQUOT, J. E. Patologia Oral & Maxilofacial. 3 ed. Rio de Janeiro. Elsevier, 2009.
3. DOMINGUES, A. M.; GIL, J. N. Cistos odontogênicos intra-osseos – diagnóstico e tratamento. São Paulo. Editora Santos, 2007.
4. NAIR, P. N. R. Pathogenesis of apical periodontitis and the causes of endodontic failures. *Crit Rev Oral Biol Med*, v. 15, n. 6, p. 348-381, 2004.
5. RIVERO, E. R. T. *et al.* Proliferative activity in oral salivary gland tumors: the role of PCNA and AgNOR assessed by a double staining technique. *J Oral Sci* v. 46, n. 2, p.87-92, 2004.
6. TRÉRE, D. AgNOR staining and quantification. *Micron*, v. 31, 127–131, 2000.
7. PICH, A.; CHIUSA, L.; MARGARIA, E. Prognostic relevance of AgNORs in tumor pathology. *Micron*, v. 31, p. 133-141, 2000.
8. FREITAS, R. A.; SERAFIM, F. M. A. Regiões organizadoras nucleolares (AgNORs) em cisto dentígero e ceratocisto odontogênico. *RPG*, v. 5, n. 3, p. 202-205, 1998.
9. COLEMAN, H. G., ALTINI, M., GROENEVELD, H. T. Nucleolar organizer regions (AgNORs) in odontogenic cysts and ameloblastomas, *J Oral Pathol Me*, v. 25, p. 436-40, 1996.
10. PLOTON, D. *et al.* Improvement in the staining and in the visualization of the argyrophilic proteins of the nucleolar organizer region at the optical level. *Histochem J*, v. 18, n. 1, p. 5-14, jan. 1986.
11. RIVERO, E. R. C.; AGUIAR M. C. F. Análise quantitativa das AgNORs no carcinoma adenoide cístico intra-oral através da técnica de dupla marcação PCNA/AgNOR. *J Bras Patol Med Lab*, Rio de Janeiro, v. 38, n. 1, p. 39-44, jan. 2002.
12. FERREIRA, A. A. *et al.* An image processing software applied to oral pathology. *Pathol Res Pract*, v. 207, n. 4, p. 232-235, abr. 2011.

13. WALTON, R. E. The residual radicular cyst: Does it exist? *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, v.82 n. 5 nov. 1996.
14. NAIR, P. N. R. On the causes of persistent apical periodontitis: a review. *Int Endod J*, v. 39, p. 249–281, 2006.
15. MUGLIARI, M. *et al.* Cytokine and chemokine levels in radicular and residual cyst fluids. *J Oral Pathol Med*, v. 37, p. 185–189, 2008.
16. DIMITROULIS, G.; CURTIN J. Massive residual dental cyst: case report. *Dent J*, v. 43, p. 234–7, 1998.
17. BANDO Y. *et al.* Immunocytochemical localization of inflammatory cytokines and vascular adhesion receptors in radicular cysts. *J Oral Pathol Med*; v. 22, n. 7 p. 221, 1993.
18. MEGHJI, S. *et al.* The role of endotoxin and cytokines in the pathogenesis of odontogenic cysts. *Arch Oral Biol*, v. 41, n.31, p. 523, 1996.
19. NONAKA, C. F. W. *et al.* Immunoexpression of vascular endothelial growth factor in periapical granulomas, radicular cysts, and residual radicular cysts. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*, v. 106, n. 6. dec. 2008.
20. SANTOS, L. C. S. *et al.* Etiopatogenia do cisto radicular. Parte I. *R. Ci. méd. biol.* v. 5, n. 1, p. 69-74, jan./abr. 2006.
21. HIGH & HIRCHMANN. Age changes in residual radicular cysts. *J Oral Pathol*. v. 15, p. 524-528. 1986.
22. OEHLERS, F. A. C. Periapical lesions and residual dental cysts. *Br J Oral Surg*. v.8, p. 103–13. 1970.
23. LIN, L. M.; HUANG, G.T.; ROSENBERG, P.A. Proliferation of epithelial cell rests, formation of apical cysts, and regression of apical cysts after periapical wound healing. *J Endod.* n. 33, v. 8, p. 908-16. aug. 2007.
24. SUZUKI, T. *et al.* Immunohistochemical analysis of apoptosis-related factors in lining epithelium of radicular cysts. *J Oral Pathol Med*. v. 34, p. 46-52. 2005.
25. NAIR, P. N. New perspectives on radicular cysts: do they heal? *Int Endod J*. v. 31, n. 3, p. 155-60. May 1998. Review.

26. NAIR, P. N.; PAJAROLA, G.; SCHROEDER, H. E. Types and incidence of human periapical lesions obtained with extracted teeth. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* v. 81, n. 1, p. 93-102. Jan 1996.
27. SOARES, J.; SANTOS, F.; SILVEIRA, F.; NUNES E. Nonsurgical treatment of extensive cyst-like periapical lesion of endodontic origin. *Int Endod J.* v. 39, p. 566-575. 2006.
28. SIQUEIRA, J. F.; RÔCAS, I. N.; RICHE, F. N. S. J.; PROVEZANO, J. C. Clinical outcome of the endodontic treatment of teeth with apical periodontitis using an antimicrobial protocol. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* v. 106, n. 5, p. 757-62. 2008.
29. LOYOLA, A. M. *et al.* Apoptosis in epithelial cells of apical radicular cysts. *Int Endod J.* v. 38, n. 7, p. 465-9. Jul, 2005.
30. MARTINS, C.A. *et al.* Immunohistochemical detection of factors related to cellular proliferation and apoptosis in radicular and dentigerous cysts. *J Endod.* v. 37, n. 1, p. 36-9. 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.joen.2010.09.010>> Acesso em abril, 2013.



**Figura 1:** Cisto Radicular: **A**, cápsula de tecido conjuntivo sem presença de infiltrado inflamatório (H&E, 400x); **B**, Maior aumento de **A**, mostrando o epitélio pavimentoso estratificado (H&E, 1000x); **C**, AgNORs evidenciadas no núcleo das células epiteliais (AgNOR, 1000x); **D**, cápsula de tecido conjuntivo intensamente inflamada (H&E, 400x); **E**, Maior aumento de **D**, mostrando o epitélio pavimentoso estratificado com áreas de acantose (H&E, 1000x); **F**, AgNORs evidenciadas no núcleo das células epiteliais (AgNOR, 1000x).



**Figura 2:** Cisto Residual: **A**, cápsula de tecido conjuntivo sem presença de infiltrado inflamatório (H&E, 400x); **B**, Maior aumento de **A**, mostrando o epitélio pavimentoso estratificado (H&E, 1000x); **C**, AgNORs evidenciadas no núcleo das células epiteliais (AgNOR, 1000x) **D**, cápsula de tecido conjuntivo com presença de infiltrado inflamatório (H&E, 400x); **E**, Maior aumento de **D**, mostrando o epitélio pavimentoso estratificado com acantose (H&E, 1000x); **F**, AgNORs evidenciadas no núcleo das células epiteliais (AgNOR, 1000x).





## REFERÊNCIAS

- BANDO, Y. *et al.* Immunocytochemical localization of inflammatory cytokines and vascular adhesion receptors in radicular cysts. *J Oral Pathol Med*; v. 22, n. 7 p. 221, 1993.
- COLEMAN, H.G.; ALTINI, M.; GROENEVELD, H. T. Nucleolar organizer regions (AgNORs) in odontogenic cysts and ameloblastomas. *J Oral Pathol*. v. 25, p. 436-40, 1996.
- DIMITROULIS, G.; CURTIN, J. Massive residual dental cyst: case report. *Dent J*, v. 43, p. 234-7, 1998.
- DOMINGUES, A. M.; GIL, J. N. Cistos odontogênicos intra-osseos – diagnóstico e tratamento. São Paulo. Editora Santos, 2007.
- ESLAMI, B.; YAGHMAEI, M.; FIROOZI, M. Nucleolar organizer regions in selected odontogenic lesions. *Oral surg oral med oral pathol*, v. 95, n. 2, p. 187-192. 2003.
- FERREIRA, A. A. *et al.* An image processing software applied to oral pathology. *Pathol Res Pract*, v. 207, n. 4, p. 232-235, apr. 2011.
- FREITAS, R. A.; SERAFIM, F. M. A. Regiões organizadoras nucleolares (AgNORs) em cisto dentígero e ceratocisto odontogênico. *RPG*, v. 5 n. 3, p. 202-205. 1998.
- HIGH & HIRCHMANN. Age changes in residual radicular cysts. *J Oral Pathol*. v. 15, p. 524-528. 1986.
- LIN, L.M.; HUANG, G. T.; ROSENBERG, P. A. Proliferation of epithelial cell rests, formation of apical cysts, and regression of apical cysts after periapical wound healing. *J Endod*. v. 33, n. 8, p. 908-16. Aug, 2007.
- LOYOLA, A. M. *et al.* Apoptosis in epithelial cells of apical radicular cysts. *Int Endod J*. v. 38, n. 7, p. 465-9. jul, 2005.
- MARTINS, C. A. Detecção imunoistoquímica de fatores relacionados à proliferação celular e ao mecanismo da apoptose em cistos radiculares e dentígeros [dissertação] orientadora, Elena Riet Correa Rivero. - Florianópolis, SC, 2009.
- MARTINS, C. A. *et al.* Immunohistochemical detection of factors related to cellular proliferation and apoptosis in radicular and

dentigerous cysts. *J Endod.* v. 37, n. 1, p. 36-9. 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.joen.2010.09.010>> Acesso em abril, 2013.

MEGHJI, S. *et al.* The role of endotoxin and cytokines in the pathogenesis of odontogenic cysts. *Arch Oral BioL*, v. 41, n. 31, p. 523, 1996.

MUGLALI, M. *et al.* Cytokine and chemokine levels in radicular and residual cyst fluids. *J Oral Pathol Med*, v. 37, p. 185–189, 2008.

NAIR, P. N. New perspectives on radicular cysts: do they heal? *Int Endod J.* v. 31, n. 3, p. 155-60. may 1998. Review.

NAIR, P. N. R. On the causes of persistent apical periodontitis: a review. *Int Endod J*, v. 39, p. 249–281, 2006.

NAIR, P. N. R. Pathogenesis of apical periodontitis and the causes of endodontic failures. *Crit Rev Oral Biol Med*, v. 15, n. 6, p. 348-381. 2004.

NAIR, P. N.; PAJAROLA, G.; SCHROEDER, H. E. Types and incidence of human periapical lesions obtained with extracted teeth. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* v. 81, n. 1, p. 93-102. jan 1996.

NEVILLE, B. W.; DAMM, D. D.; ALLEN, C. M.; BOUQUOT, J. E. *Patologia Oral & Maxilofacial*. 3 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2009.

NONAKA, C. F. W. *et al.* Immunoexpression of vascular endothelial growth factor in periapical granulomas, radicular cysts, and residual radicular cysts. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*, v. 106, n. 6. dec. 2008.

OEHLERS, F. A. C. Periapical lesions and residual dental cysts. *Br J Oral Surg.* v.8, p. 103–13. 1970.

PICH, A.; CHIUSA, L.; MARGARIA, E. Prognostic relevance of AgNORs in tumor pathology. *Micron*, v. 31, p. 133-141. 2000.

PLOTON, D. *et al.* Improvement in the staining and in the visualization of the argyrophilic proteins of the nucleolar organizer region at the optical level. *Histochem J*, v. 18, n. 1, p. 5-14, jan. 1986.

REGEZI, J. A. Periapical Diseases: Spectrum and Differentiating Features. *J Calif Dent Assoc*, v. 27, n. 4, p. 285 – 9. 1999.

- RIVERO, E. R. C.; AGUIAR, M. C. F. Análise quantitativa das AgNORs no carcinoma adenoide cístico intra-oral através da técnica de dupla marcação PCNA/AgNOR. *J Bras Patol Med Lab*, Rio de Janeiro, v. 38, n. 1, p. 39-44, jan. 2002.
- RIVERO, E. R. T. *et al.* Proliferative activity in oral salivary gland tumors: the role of PCNA and AgNOR assessed by a double staining technique. *J Oral Sci*, v. 46, n. 2, p. 87-92. 2004.
- SANTOS, A. C. *et al.* Quantitative AgNORs study in ameloblastomas. *Rev. odonto ciênc.* v. 24, n. 1, p. 10-14. 2009
- SANTOS, L. C. S. *et al.* Etiopatogenia do cisto radicular. Parte I. *R. Ci. méd. biol.* v. 5, n. 1, p. 69-74, jan./abr. 2006
- SANTOS, L. C. S. *et al.* Etiopatogenia do cisto radicular. Parte II. *R. Ci. Méd biol.* v. 8, n. 2, p. 219-224. 2009.
- SANTOS, T. S.; ANTUNES, A. A.; AVELAR, R. L.; ANTUNES, A. P. Cistos odontogênicos: estudo epidemiológico de 72 casos. *Rev. Bras. Cir. Cabeça Pescoço*, v. 36, n. 1, p. 30-32, 2007.
- SHAFFER, W.; HINE, M.; LEVY, B. Tratado de patologia bucal. 4ª edição, Rio de Janeiro. Editora Guanabara Koogan, 1987.
- SIQUEIRA, J. F.; RÔCAS, I. N.; RICHE, F. N. S. J.; PROVEZANO, J. C. Clinical outcome of the endodontic treatment of teeth with apical periodontitis using an antimicrobial protocol. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* v. 106, n. 5, p. 757-62. 2008.
- SIRRI, V.; ROUSSEL, D.; HERNANDEZ-VERDUN. The AgNOR proteins: qualitative and quantitative changes during the cell cycle. *Micron*, v. 31, p. 121-126. 2000.
- SOARES, J.; SANTOS, F., SILVEIRA, F.; NUNES, E. Nonsurgical treatment of extensive cyst-like periapical lesion of endodontic origin. *Int Endod J.* v. 39, p. 566-575. 2006.
- SUZUKI, T. *et al.* Immunohistochemical analysis of apoptosis-related factors in lining epithelium of radicular cysts. *J Oral Pathol Med.* v. 34, p. 46-52. 2005.
- TRÉRE, D. AgNOR staining and quantification. *Micron*, v. 31, p. 127-131. 2000.
- WALTON, R. E. The residual radicular cyst: Does it exist? *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, v. 82, n. 5, nov. 1996.

## ANEXO A

UNIVERSIDADE FEDERAL DE  
SANTA CATARINA - UFSC



### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

#### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** Avaliação do metabolismo epitelial em cistos radiculares pela técnica de AgNORs

**Pesquisador:** Elena Riet Correa Rivero

**Área Temática:**

**Versão:** 1

**CAAE:** 07292412.8.0000.0121

**Instituição Proponente:** Universidade Federal de Santa Catarina

#### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 131.490

**Data da Relatoria:** 22/10/2012

#### Apresentação do Projeto:

"Avaliação do metabolismo epitelial em cistos radiculares pela técnica de AgNORs". Projeto que visa estudar cistos radiculares e residuais, decorrentes de uma inflamação da polpa dental com consequente necrose pulpar. Os microrganismos que continuam no canal do dente causam injúrias ao tecido periapical, provocando uma resposta inflamatória do organismo e fazendo células restantes do epitélio odontogênico proliferarem, formando a cápsula cística. A proliferação inicial do cisto é causada pela inflamação periapical presente no periápice, e, para verificar se inflamação ainda presente no tecido influencia na proliferação celular da cápsula cística, será empregada a técnica de AgNORs em cistos radiculares e residuais do Laboratório de Patologia Bucal da UFSC. Esta técnica consiste em corar as proteínas argirofílicas relacionadas à proliferação celular presentes no núcleo da célula, e através de análise quantitativa, verificar se a inflamação tem influência no crescimento cístico na mesma lesão, e entre o cisto radicular e o cisto residual.

#### Objetivo da Pesquisa:

O objetivo principal é avaliar a atividade proliferativa no epitélio de revestimento de cistos radiculares e residuais, por meio da quantificação de AgNORs. Secundariamente, avaliar quantitativamente as proteínas AgNORs no epitélio de cistos radiculares e residuais, identificar se existe diferença entre a quantificação das AgNORs em cistos radiculares e residuais, avaliar a presença de infiltrado inflamatório em cistos radiculares e residuais e comparar o número médio de AgNORs nas áreas inflamadas e não inflamadas dos cistos radiculares e residuais.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE  
SANTA CATARINA - UFSC



**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

Visto que as amostras serão provenientes dos arquivos do Laboratório de Patologia Bucal, de lesões previnidas biopsiadas e diagnosticadas, não há risco para os participantes.

Como benefícios contribuir com a compreensão em relação ao metabolismo epitelial e mecanismos de crescimento dos cistos radiculares e residuais.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

Trata o presente de um Trabalho de Conclusão de Curso - TCC, do Curso de Odontologia da UFSC, onde serão estudados através da técnica de AgNORs, cistos radiculares e residuais de pacientes que foram diagnosticados e tratados na UFSC. O material biopsado encontra-se armazenado no Laboratório de Patologia Bucal da UFSC. O estudo consiste em corar as proteínas argirofílicas relacionadas à proliferação celular presentes no núcleo da célula, e através de análise quantitativa, verificar se a inflamação tem influência no crescimento cístico na mesma lesão, e entre o cisto radicular e o cisto residual. O projeto encontra-se devidamente documentado, TCLE adequado aos participantes, estando portanto, de acordo com a Resolução nº196/96 e normas complementares.

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Documentação completa.

**Recomendações:**

Não se aplica.

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Não foram encontradas pendências ou inadequações neste projeto.

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

**Considerações Finais a critério do CEP:**

Nada a acrescentar. Aprovado o parecer do relator.

FLORIANÓPOLIS, 25 de Outubro de 2012

---

Assinador por:  
Washington Portela de Souza  
(Coordenador)